

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin - Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Das Knochenmark beim Milztumor und
seine Kinetik nach dem Verhalten in
der 3-Tage-Kultur.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Eberhard B a u c k s
aus Burgsteinfurt

1972

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses

Berlin - Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation

mit EURATOM München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

Das Knochenmark beim Milztumor und
seine Kinetik nach dem Verhalten in
der 3-Tage-Kultur.



Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an den Medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Eberhard B a u c k s

aus Burgsteinfurt

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr. med. Hans-Joachim Engel



Promoviert am: 28. September 1972

Meiner Mutter

in Dank gewidmet.

INHALT

	<u>Seite</u>
I. Einleitung und Problemstellung	3
II. Methode	8
III. Beurteilung der Ergebnisse	14
IV. Diskussion	20
V. Zusammenfassung	22
VI. Tabellen und Abbildungen	23
VII. Literatur	53

I. Einleitung und Problemstellung

Unter dem Begriff Hypersplenismus (22) oder auch splenogene Markhemmung (4, 30, 33) versteht man die Kombination eines zellreichen, in der Erythro- sowie Granulocytopoese linksverschobenen Knochenmarks mit einem peripheren Mangel aller geformten Blutelemente oder nur einzelner Klassen, wenn ein gleichzeitig bestehender Milztumor die Ursache dieser hämatologischen Veränderungen ist.

Die Befunde lassen sich durch Splenektomie bessern. Wenn danach eine Beeinflussung durch die Milz sicher erscheint, so konnten bisher in zahlreichen Arbeiten die Frage, ob das Knochenmark nur auf die vermehrte Zerstörung der Blutzellen in der Milz reagiert oder ob die Milz in irgendeiner Form das Knochenmark direkt beeinflusst, nicht sicher beantwortet werden.

Als Ursache der Hypersplenie werden von den einzelnen Autoren zwei Möglichkeiten diskutiert:

1. Hypothese einer direkten Knochenmarkhemmung durch einen lienalen Wirkstoff (1, 11, 24).
2. Hypothese einer Verkürzung der Lebensdauer der Zellen aus immunologischen oder nichtimmunologischen Gründen (14).

Die eine Hypothese setzt ein von der Milz produziertes Prinzip voraus, das die Zellreifung und/oder die Zellausschwemmung im Knochenmark hemmt, oder einen Knochenmark-stimulierenden Stoff zerstört.

Der zweiten Hypothese zufolge steht ein peripherer Mechanismus im Vordergrund, bei dem es durch intralienale Veränderungen zu einer Verkürzung der Lebensdauer der Blutelemente kommt, und das Knochenmark mit einer Hyperproduktion reagiert.

Eine humoral bedingte Hemmung des Knochenmarks im Rahmen einer Milzvergrößerung wird zur Zeit nur von wenigen Autoren für wahrscheinlich gehalten (u. a. v. Albert und Ruhenstroth-Bauer).

Die Hemmung des Knochenmarks durch einen humoral-hormonalen Faktor der Milz wird 1916 erstmals von FRANK postuliert (16). BOCK und FRENZEL (4) glauben einen solchen markhemmenden Stoff durch Versuche nachgewiesen zu haben, indem sie das Milzblut unter Umgehung der Leber in den großen Kreislauf umleiteten und danach eine Anämie, Leuko- und Thrombocytopenie sehen. Es wird angenommen, daß der lienale Hemmstoff auf diese Weise nicht in der Leber inaktiviert, sondern direkt auf das Knochenmark wirksam werden kann. Ob es sich hierbei um eine Behinderung der Ausschwemmung oder um eine verminderte Neubildung der Blutzellen handelt, wird von den beiden Autoren nicht entschieden. Während JOMBRES (24) diese Befunde in ähnlichen Experimenten bestätigt, kann KISSMEYER-NIELSEN (25) im Knochenmark keine Veränderungen feststellen. JOMBRES nimmt an, daß die hemmende Wirkung hauptsächlich die Ausschwemmungsleistung des Knochenmarks betrifft.

Anhaltspunkt der Theorie über humoral inhibitorische Einwirkungen der Milz auf das Knochenmark ist die schon lange bekannte Tatsache, daß die Splenektomie bei Versuchstieren eine Leukocytose zur Folge hat. PALMER (29) behauptet, daß die in seinen Versuchen mit splenektomierten Ratten verursachte Leukocytose auf dem Mangel eines lienalen Hemmstoffes beruhe, der sich auf alle Zellen des Knochenmarks beziehe. Aus den Befunden, die hierfür sprechen, ist zu er-

wähnen, daß die Belassung von nur 10 % der Milz die Folgen einer Splenektomie größtenteils verhindert (20).

Für einen hemmenden Einfluß der Milz spricht auch die Beobachtung von CROSBY, daß die Fütterung von Ratten mit roher Milz zur Leukopenie führt (12). Die Verabreichung von Milzextrakten des Rindes hat aber beim Menschen eine myelostimulierende Wirkung (27), die im cytopenischen Zustand am kräftigsten ist.

BALDINI (3) findet 1958 bei säugenden Jungen von Ratten, die nach Methylcellulose-Injektion eine Splenomegalie entwickeln, eine Anämie und Thrombocytopenie. Der Effekt wird auch hier auf einen von der Mutter stammenden humoralen Milzfaktor zurückgeführt.

Zum Nachweis knochenmarkwirksamer Substanzen untersuchten v. ALBERT und ZICKGRAF die hämatologischen Wirkungen verschiedener Extrakte aus "hypersplenien" Kälbermilzen und dem Extrakt einer menschlichen Hyperspleniemilz in Deckglas- und Flüssigkeitskulturen. Die Versuchsergebnisse zeigen eine zum Teil dosisabhängige Beeinflussung vor allem des myeloischen Systems, die sich in einer Proliferationshemmung mit Reduzierung der Mitosehäufigkeit und in einer Reifungshemmung mit Zunahme der unreifen Vorstufen äußert (1).

Wenn einerseits der Milz eine inhibitorische Einwirkung auf das Knochenmark zugesprochen wird, die im Normalfall nur gering, beim Hypersplenismus aber zu kräftig wirkt, so werden andererseits humoral-hormonale Beziehungen zwischen Milz und Knochenmark zurückgewiesen (33, 27) und die hämatologischen Veränderungen bei einem Milztumor nur als Folge einer pathologischen Speichere Wirkung, einer vermehrten Sequestrierung und Zerstörung der Blutzellen in der Milz gesehen (15, 36). Aufgrund anato-

mischer Studien sehen schon v. HAAM und AWNY 1948 in der Stagnation der Blutzellen in der Milz die Hauptursache des Hypersplenismus (18). In Tupfpräparaten hypersplener Milzen nehmen sie eine Hyperplasie der RES-Elemente wahr. Die RES-Zellen haben Granulocyten phagocytiert, die Pulpa enthält zwar keine Erythrocyten, aber erhebliche Mengen von Granulocyten.

DOAN (13) glaubt, daß eine vermehrte Stagnation der Blutzellen in der Milz die Voraussetzung für einen vorzeitigen Abbau der Zellen ist.

Für die Erythrocyten wird diese Ansicht auch von JANDL (23) und MOTULSKY (28) vertreten, wobei für die frühzeitige Liquidation entweder Veränderungen an den Zellen oder am Filterorgan Milz selbst - Porengröße der Pulpa-maschen - verantwortlich sind.

Für die Häufung der Leukopenien und Thrombocytopenien bei splenomegalen Zuständen gibt REIMANN (31) eine Erklärung: "Die Leukocyten werden am frühesten in der Milz aufgrund ihrer Zellgröße, ihrer ausgedehnten, klebrigen und leicht haftenden Oberfläche retiniert, die Thrombocyten, weil sie sich in einem verlangsamten Blutstrom zu Agglomeraten zusammenfinden können, deren Größe etwa der von Leukocyten entspricht."

Nach SACCHETTI und BOCCACCIO (32) bildet die Milz einen großen Teil des marginalen Pools. Die beiden Autoren sehen die Leukopenie bei Splenomegalie als Folge der Vergrößerung dieses marginalen Pools an. Die Splenektomieleukocytose entsteht durch Übergang der Leukocyten in den zirkulierenden Pool, wobei der Gesamtpool konstant bleibt und es infolgedessen nicht zu einer Linksverschiebung des Blutbildes kommen kann.

II. Methode

Bei 11 Patienten mit Milztumoren infolge chronischer Lebererkrankung, meist Cirrhosen, und einem Patienten mit Milztumor ohne faßbare Ursache wurde das Sternum punktiert. Ein Teil des gewonnenen Materials diente zur Anfertigung von Originalausstrichen, die wir nach PAPPENHEIM färbten. Dem restlichen Knochenmark wurde zur Verhinderung der Blutgerinnung Heparinlösung 3 mg% in Hanks-Lsg. zugesetzt. Die Kulturen haben wir nach der von BOLL und FUCHS modifizierten Deckglasmethode der Gewebezüchtung im hängenden Tropfen angelegt (10). Bei dieser vereinfachten Methode wurde zur Herstellung des Nährmediums statt Hühnerplasma und Hühnerembryonalextrakt menschliches Nativplasma verwandt, dem als Wuchsstoff das Präparat Corhormon^R der Firma Chemiewerk Homburg zugesetzt war.

Das Nährmedium enthielt 50 % Nativplasma des Patienten, 10 % Corhormon (dreifach verstärkt) und als physiologische Salzlösung 40 % Hanks-Lsg.

Auf ein Deckglas wurde von dem gemischten Medium ein Tropfen gegeben, der nach wenigen Minuten ein Koagulum bildete. Auf jedes Koagulum wurde ein Knochenmarkbröckchen gesetzt und mit Serum des Patienten überschichtet. Danach wurden die Kulturen mit Hohschliffobjektträgern bedeckt, durch Hartparaffin luftdicht abgeschlossen und umgedreht, so daß Kulturen am hängenden Tropfen entstanden. Diese wurden bei 37°C für 24 h, 48 h und 72 h bebrütet, ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt.

Die Auszählung der Präparate erfolgte mit der Ölimmersionsvergrößerung ausschließlich in der Fahne eines jeden Ausstriches, indem diese mäanderförmig durchmustert wurde.

Von den 12 untersuchten Patienten differenzierten wir von jedem Ausstrich 1000, bei Fall 1, 2 und 3 je 2000 Knochenmarkzellen.

Die Zellen der Erythrocytopoese und Granulocytopoese wurden wie folgt differenziert (5, 8):

Erythrocytopoese:

Proerythroblast (PE):

Er ist die Stammzelle der Erythrocyten; eine abgerundete Zelle mit zentrisch gelagertem, großemrunden Zellkern, fein gezeichnetem Chromatinnetz und schmalem basophilen Cytoplasmasaum.

Basophiler Erythroblast (bE):

Der Kern nimmt an Volumen ab; das Chromatin ist grobschollig strukturiert. Der Cytoplasmasaum wird breiter und ist kräftig basophil.

Polychromatischer Erythroblast (pE):

Der Kern zeigt die typische Radspeichenstruktur. Das Cytoplasma verliert durch beginnende Hämoglobineinlagerung seine Basophilie und erscheint grau-blau bis grau-rosé.

Oxyphiler Erythroblast (oE):

Er ist die letzte noch teilungsfähige Zelle der Erythrocytopoese. Der Kern ist klein und dichter, oft noch mit Radspeichenstruktur. Die Hämoglobineinlagerung ist vollständig, und das Cytoplasma färbt sich rot-orange.

Reifer Erythroblast (rE):

Der völlig pyknotische, schwarze Kern ist oft exzentrisch gelagert. Das Cytoplasma ist gelegentlich polychromatisch, sonst wie das des oxyphilen Erythroblasten und des Erythrocyten gefärbt.

Granulocytopoese:

Myeloblast (Mbl):

Er ist die Stammzelle der Granulocytopoese mit großem, rundem, an einer Stelle oft abgeflachtem Kern, der fein strukturiert und von einem sehr schmalen, schwach basophilen Cytoplasmasaum umgeben ist.

Promyelocyt (Prom):

Er ist die größte Zelle der Granulocytopoese mit einem ovalen Kern und charakteristisch azurophiler Granulation.

Myelocyt (neutrophil) (Myel):

Der Kern hat eine ovale Form. Das Cytoplasma hat die azurophile Granulation verloren und erscheint gleichmäßig neutrophil (grau-farblos).

Myelocyt (eosinophil) (eos Myel):

Die Zelle besitzt die gleiche Kernform wie der neutrophile Myelocyt. Das Cytoplasma ist jedoch mit dicken, auffällig orangefarbenen Granula ausgefüllt.

Metamyelocyt (MM):

Der Kern buchtet sich stark ein und ist grob strukturiert. Das Cytoplasma gleicht dem des Myelocyten.

Stabkerniger
Granulocyt (St):

Er ist durch die Ausbildung eines C- oder S-förmigen Kernes gekennzeichnet. Die Kernstruktur erscheint durch Vergrößerung der Chromatinschollen dichter als beim Metamyelocyten.

Segmentkerniger
Granulocyt (Seg):

Der Kern hat die Form einer Hantel oder eines Kleeblattes. Das Cytoplasma ist oft auffällig granuliert.

Eosinophiler
segmentkerniger
Granulocyt (eos Seg):

Das Cytoplasma ist auffällig orangefarben granuliert. Die Kernform entspricht der des neutrophilen Segmentkernigen.

Auf eine Differenzierung der eosinophilen Metamyelocyten und eosinophilen Stabkernigen konnte wegen ihres geringen Anteils verzichtet werden. Der eosinophile Metamyelocyt wurde dem eosinophilen Myelocyten, der eosinophile Stabkernige dem eosinophilen Segmentkernigen zugeordnet. Die basophilen Zellen blieben ganz unberücksichtigt, da sie im Zählergebnis nicht ins Gewicht fallen.

Die Zählergebnisse der roten und weißen Reihe wurden in Reifungskurven graphisch dargestellt, die das Verhältnis der einzelnen Zellarten und Reifungsstadien wiedergeben. Außerdem wurde das Verhältnis der Gesamtzahl beider Reihen für jede Kultur im G/E-Index rechnerisch erfaßt:

$$\frac{G}{E} \text{ I} = \frac{\text{Gesamtzahl der Zellen der Granulocytopoese}}{\text{Gesamtzahl der Zellen der Erythrocytopoese}}$$

Neben der Differentialzellzählung wurden auch die Mitosen in ihren verschiedenen Phasen registriert und ein roter Mitoseindex (r M I) für die Erythropoese und ein weißer Mitoseindex (w M I) für die Granulocytopoese bestimmt. Der Mitoseindex stellt ein wichtiges Merkmal für den Grad der Knochenmarkproliferation dar, er errechnet sich aus der Anzahl der Mitosen auf 1000 teilungsfähige Zellen:

$$r \text{ M I} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Erythroblasten}}$$

$$w \text{ M I} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Zellen der Granulocytopoese}}$$

Als teilungsfähig wurden in der Erythrocytopoese die Entwicklungsstadien bis zum oxyphilen Erythroblasten angesehen, in der Granulocytopoese Myeloblast, Promyelocyt, Myelocyt und Metamyelocyt.

Der Ablauf der Mitosen wurde in folgende Phasen unterteilt (9):

1. Prophase (P): Kennzeichnend durch die Auflösung der Kernmembran und der Nukleolen. Die Chromosomen werden als dünne Fäden sichtbar (= festes Spirem).
2. Frühe Metaphase (fM): Die Chromosomen sind locker und ungeordnet über die früheren Kerngrenzen hinaus verteilt (= lockeres Spirem).
3. Späte Metaphase (sM): Die Chromosomen sind zur Äquatorialplatte angeordnet, in der Aufsicht bilden sie den Monaster. Die Zelle ist noch rund.
4. Anaphase (A): Die in zwei Gruppen auseinanderweichenden Chromosomen bilden den Diaster. Die Zelle ist meist oval.

5. Telophase (T): Das Protoplasma zeigt eine deutliche Einschnürung. Die Chromosomen der Tochterzellen bilden ein lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase (R): Die Tochterzellen sind gelegentlich nur noch durch einen feinen Zytoplasmafaden miteinander verbunden. Die Kerne beider Zellen ähneln dem Kern der Prophase. Kernmembran und Nukleolen sind noch nicht wieder ausgebildet.

An Hand des χ^2 - Tests nach HELMERT PEARSON (17) prüften wir, ob die Abweichungen in der Zellverteilung bei splenogener Markhemmung gegenüber den Normalwerten signifikant oder nur zufallsbedingt sind (Tab. 1 - 11). Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde nach den errechneten χ^2 - Werten aus statistischen Tabellen (17) abgelesen, wobei die sich ergebenden Unterschiede in der Zellverteilung als signifikant anzusehen waren, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit nur 1 % betrug. Für die zehn verschiedenen Zellformen der Granulocytopoese liegt die Signifikanz bei $\chi^2 = 20$, in der Erythrocytopoese mit fünf Reifungsstufen bei $\chi^2 = 13$.

Folgende Bezeichnungen bedeuten:

a = Zellzahl der Kulturen bei splenogener Markhemmung

b = Zellzahl der Kontrollkulturen

$$m = \frac{a + b}{2}$$

Δ = Differenz a-m (absoluter Wert)

$$\chi^2 = \text{Summe der Einzelergebnisse } \frac{\Delta^2}{m} .$$

III. Beurteilung der Ergebnisse

Um detaillierte Angaben über Veränderungen der Knochemarkkinetik der Patienten mit Milztumoren zu gewinnen, betrachten wir die einzelnen Komponenten der Proliferation der roten und weißen Zellen, nämlich Reifung und Regeneration, gesondert und vergleichen sie mit den Werten von 19 gesunden Patienten, deren Sternalpunktate unter den gleichen Bedingungen kultiviert wurden.

Die Reifung läßt sich an Hand der prozentualen Verteilung der Zellen, die Regeneration an Hand der Mitoseaktivität beurteilen. Die prozentuale Verteilung wird graphisch in Reifungskurven (Abb. 1 - 13) dargestellt, die Mitoseaktivität rechnerisch durch den Mitoseindex (Tab. 17) bestimmt.

A. Daten zur Proliferationskinetik in vivo

Ergebnisse der Auszählung der Knochenmarkausstriche sofort nach der Sternalpunktion.

1. Erythropoese

a) Reifung (Tab. 14)

In den Knochenmarkausstrichen der normalen Erythropoese beträgt der Anteil der Proerythroblasten 5 %. 65 % der Erythroblasten sind polychromatische, nur 3 % oxyphile. Die basophilen Erythroblasten bilden einen Anteil von 15 % (6).

Die basophilen Erythroblasten zeigen in allen Fällen eine erhebliche Zunahme. In Abb. 11 imponiert die Steigerung auf 42 %, in Abb. 8 auf 55 %. Im Mittel erhöht sich der Anteil der basophilen Erythroblasten auf 30 % (Tab. 14). Bei den polychromatischen Erythroblasten sehen wir bei allen Patienten eine Verringerung (Abb. 1 - 12).

Während der Normwert 65 % beträgt, bilden sie in unseren Ausstrichen nur noch einen mittleren Anteil von 42 % (Tab. 14).

In den Einzeldarstellungen zeigen die reifen Erythroblasten in einigen Fällen eine starke Verringerung, in anderen Fällen eine Zunahme, im Mittel ist die Abweichung von der Norm aber nur gering (11 % gegenüber normal 12 %).

In den von BOLL (6) zusammengestellten Daten über die normale Erythropoese findet sich im Originalausstrich ein durchschnittlicher G/E-Index von 3,4 (Tab. 13). Mit Ausnahme des Falles 9 sind die G/E-Indices in den Ausstrichen der Patienten mit Milztumor erniedrigt (Max. Abweichung - 2,9), der gemittelte G/E-Index beträgt 2,2.

Die Gesamtzahl der Zellen der Erythropoese ist bei splenogener Markhemmung in vivo erhöht. Proerythroblasten und basophile Erythroblasten sind hauptsächlich zu Lasten der polychromatischen Erythroblasten vermehrt. Es liegt eine deutliche Linksverschiebung der Erythropoese vor.

b) Regeneration (Tab. 14)

Der gesamte rote Mitoseindex ist mit 11,1 ‰ gegenüber 14,7 ‰ der normalen Erythropoese geringfügig erniedrigt.

Betrachtet man in den Originalausstrichen der normalen Erythropoese die Mitoseindices der einzelnen Reifungsklassen, so ist er bei den basophilen Erythroblasten mit 51,9 ‰ am höchsten. Demgegenüber überrascht bei splenogener Markhemmung der niedrige Wert von 15,4 ‰. Der Index der Proerythroblasten ist ebenfalls erniedrigt, etwas erhöht der der polychromatischen Erythroblasten.

In unseren Originalausstrichen sehen wir also bei den basophilen Erythroblasten viel weniger Mitosen als bei den gesunden Patienten. Die Regeneration der Erythropoese ist insgesamt geringfügig gehemmt.

2. Granulocytopoese

a) Reifung (Abb. 1 - 12)

In der weißen Reihe fällt bei den einzelnen Ausgangspräparaten der zwölf untersuchten Patienten eine starke Vermehrung der stabkernigen und segmentkernigen Granulocyten ins Auge. Die Segmentkernigen bilden einen Anteil von 32 % (Tab. 15). Der hohe Anteil der stabkernigen Granulocyten kommt in dem Mittelwert von 20 % (normal 19 %) der Tabelle 15 nicht deutlich zum Ausdruck, da zu niedrige Zählwerte der Fälle 3 und 7 den Befund verwischen.

Die Metamyelocyten sind in allen Fällen signifikant vermindert, weniger deutlich verringert sich der Anteil der Myelocyten.

Diese Ergebnisse zeigen eine gute Ausreifung der Myelocyten und Metamyelocyten zu den stab- und segmentkernigen Granulocyten in den Ausstrichen sofort nach der Sternalpunktion.

In der Granulocytopoese findet sich also in vivo eine erhebliche Rechtsverschiebung, die auf eine Ausschwemmungshemmung der reifen Granulocyten aus dem Knochenmark schließen läßt.

b) Regeneration

Der gesamte weiße Mitoseindex, bei dessen Berechnung die Metamyelocyten einmal zu, einmal nicht zu den teilungsfähigen Zellen gerechnet sind, ist im Mittel reduziert. Bei Aufgliederung auf die einzelnen Reifeklassen weisen die Myeloblasten gegenüber den Normwerten extrem niedrige Mitosezahlen auf, aber auch die Mitoseindices der anderen Reifeklassen sind erniedrigt.

Die Zellmultiplikation aller teilungsfähigen Zellen ist insgesamt gehemmt, ausgedrückt im erniedrigten Mitoseindex.

Wir finden also bei Patienten mit Milztumor in vivo eine geringere Mitoseaktivität der granulocytopoetischen Zellen als bei den gesunden Vergleichspersonen.

B. Daten zur Proliferationskinetik in vitro

Ergebnisse der Auszählung der Knochenmarkausstriche
nach 24 - bis 72 - stündiger Kultivierung

1. Erythropoese

a) Reifung

In den Kulturen des normalen Knochenmarks kommt es bis zu 48 Stunden zu einer guten Ausreifung der Erythropoese (Abb. 13).

Die Anzahl der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten sinkt zugunsten der reifen Erythroblasten (8).

Vergleichen wir unsere gemittelten Reifungskurven mit den Vergleichskurven der gesunden Patienten (Abb. 13), so sehen wir bis zur 24-Stunden-Kultur einen gleichgerichteten Verlauf. Von 24 bis 48 Stunden nehmen die teilungsfähigen Erythroblasten weiter gleichmäßig zugunsten der reifen Erythroblasten ab. In der 72-Stunden-Kultur sehen wir schließlich einen ausgeprägten Anstieg der reifen Erythroblasten. Sie bilden hier einen Anteil von 60 %, während sie im gesunden Knochenmark nach 72 Stunden nur mit 35 % vertreten sind.

Die Befunde lassen eine gute Ausreifung der roten Zellen in vitro bei den Patienten mit Milztumor erkennen, die bis zur 48-Stunden-Kultur in etwa der des gesunden Knochenmarks gleicht, in der 72-Stunden-Kultur aber noch ausgeprägter zu sein scheint.

b) Regeneration

Der gesamte rote Mitoseindex (Tab. 17) zeigt mit zunehmender Kulturdauer wie in der normalen Erythropoese rückläufige Tendenz. Die Mitoseindices der einzelnen Reifungsklassen sind insgesamt gesenkt, nur bei den polychromatischen Erythroblasten finden wir nach den verschiedenen Kulturstunden etwas höhere Werte als in den Kulturen des Normalmarks.

Die Mitoseaktivität der Zellen ist also, abgesehen von den polychromatischen Erythroblasten, bei splenogener Markhemmung in vitro abgeschwächt.

Die G/E-Indices sind nach 24, 48 und 72 Stunden gesenkt (Tab. 13 und 16), d. h. der Anteil der Erythroblasten hat gegenüber der Granulocytopoese trotz guter Ausreifung zugenommen. Diese Tatsache ist bei den verminderten Mitoseindices in vitro nicht durch Zellmultiplikation der Erythroblasten zu erklären; vielmehr scheint eine Hemmung ihrer Entwicklung durch Störung im Entkernungsmechanismus vorzuliegen.

2. Granulocytopoese

a) Reifung (Abb. 1 - 13)

In den Kulturausstrichen nach 24 Stunden fällt eine starke Vermehrung der teilungsfähigen Granulocyten auf, wobei besonders die Promyelocyten zu Lasten der Stabkernigen und Segmentkernigen zunehmen.

Der Fall 4 (Abb. 4), bei dem es bis zu 48 Stunden zu keiner signifikanten Änderung der Zellverteilung kommt, stellt eine Ausnahme dar. In der gemittelten Reifungskurve (Abb. 13) sieht man dann nach 48 und 72 Stunden einen leichten Anstieg der Segmentkernigen, jedoch werden die anfänglich hohen Werte der Ausgangskultur nicht wieder erreicht. Die Zahl der Promyelocyten und Myelocyten nimmt im gleichen Maße ab.

Der Anteil der Metamyelocyten und Stabkernigen bleibt von 24 bis 72 Stunden ziemlich konstant. Gegenüber der normalen Granulocytopoese verringert sich in der 72-Stunden-Kultur der prozentuale Anteil der stabkernigen Granulocyten um 7 %. Bei den segmentkernigen Granulocyten findet sich keine nennenswerte Änderung.

In der Granulocytopoese sehen wir nach anfänglicher Rechtsverschiebung eine ausgeprägte Linksverschiebung nach 24 Stunden. Der Befund deutet auf eine reduzierte Reifungstendenz der granulocytopoetischen Zellen bei splenogener Markhemmung hin.

b) Regeneration

Die Mitoseindices der Granulocytopoese weisen bei 50 % der untersuchten Patienten mit Milztumor bis zu 48 Stunden deutlich erhöhte Werte auf (Tab. 18).

Der gesamte weiße Mitoseindex mit Metamyelocyten (Tab. 17) beträgt nach dem ersten Kulturtag 11,8 ‰ (normal 15,0 ‰), wobei die Promyelocyten hier die Reifestufe mit der größten Mitosezahl (15,9 ‰) darstellen.

Die Regeneration der Granulocytopoese, gemessen am Mitoseindex, ist bis zu 48 Stunden stimuliert, am stärksten bei den in der Reifungskurve vermehrten Promyelocyten. So läßt sich nicht nur aus den Reifungskurven, sondern auch durch die gut fortdauernde Regeneration eine Reifungsverzögerung der granulocytopoetischen Zellen in vitro ablesen.

IV. Diskussion

In der Erythropoese lassen sich unsere Befunde in vivo - Vermehrung und Linksverschiebung bei gleichzeitiger Anämie im peripheren Blut - als Ausdruck einer ineffektiven Erythropoese beim Banti-Syndrom deuten.

Die Ergebnisse aus den dreitägigen Kulturversuchen weisen auf eine Entkernungsstörung der ausgereiften Erythroblasten hin. Gestützt wird die Annahme durch den hohen Anteil reifer Erythroblasten in vivo und in vitro.

In der Reifungskurve des Falles 12 (Abb. 12), bei dem mögliche toxische Beeinflussungen durch eine Lebererkrankung entfallen, werden unsere Befunde besonders deutlich. Der Anteil reifer Erythroblasten mit pyknotischem Kern ist 24 Stunden gleichbleibend. Nach längerer Kulturdauer kommt es zwar zur Reifung der Zellen, aber nicht zum Anstieg des G/E-Index als Ausdruck der Ausreifung bis zu den Erythrocyten.

Die erhebliche Rechtsverschiebung der Granulocytopoese in vivo mit einem Anteil der Segmentkernigen von 32 % läßt im Hinblick auf die verminderte Anzahl Segmentkerniger im peripheren Blut auf eine Ausschwemmungshemmung der reifen Granulocyten aus dem Knochenmark schließen. Dieser Befund entspricht den Ergebnissen JOMBRES' nach Pfortaderunterbindung bei Kaninchen (24); obwohl die Granulocyten im Blut eine starke Abnahme zeigen, werden an sich ausschwemmungsfähige, ausgereifte Formen der myeloischen Reihe im Knochenmark zurückgehalten.

SACCHETTI und BOCCACIO (32) untersuchten die Verteilung der Granulocyten im Blut bei Patienten mit Splenomegalie durch Transfusion autologer, mit DFP ³² markierten Leukocyten und fanden bei normaler Gesamt-Granulocytenmenge einen auf die Hälfte verminderten zirkulierenden Granulocytenanteil bei entsprechend erhöhtem "marginal pool". Nach unseren Differentialzählungen befindet sich der marginale Pool zum großen Teil im Knochenmark, nicht, wie SACCHETTI (32) aufgrund von Mobilisierungsversuchen mit Adrenalin annimmt, in der Milz. Die Leukopenie, wie sie beim Banti-Syndrom vorkommt, scheint also eher die Folge einer behinderten Ausschwemmung der Segmentkernigen, als die Folge einer Vergrößerung des marginalen Pools der Milz zu sein. Das Auftreten einer Leukocytose kurz nach der Splenektomie spricht auch gegen einen Randpool in der Milz. Der Verlauf der Reifungskurven aus den Kulturversuchen und die nach 24 Stunden stimulierte Regeneration weisen auf eine zusätzliche Reifungsverzögerung der Granulocytopoese beim Banti-Syndrom hin.

Unsere Untersuchungen zeigen eine in vivo eingeschränkte Regeneration und eine in der Koagulumkultur darstellbare Reifungsstörung beider Reihen der Hämatopoese beim Banti-Syndrom. Die bei zellreichem Knochenmark herabgesetzte Proliferation der Erythropoese und Granulocytopoese, die schon COTTIER (11) durch den Extrakt einer Hyperspleniemilz hervorrief, spricht gegen die Annahme einer reinen Poolfunktion der Milz mit vermehrter Speicherung und Zerstörung der Zellelemente im Milztumor, fand doch BOLL (8, 9) bei Haemolyse oder hohem Leukocytenverbrauch beim Infekt ein gegenständliches Verhalten der Proliferation in vivo wie in vitro.

Es erhebt sich demnach die Frage, ob die hämatologischen Veränderungen beim Hypersplenismus nicht doch Folge eines humoral-hormonalen Milzfaktors im Sinne einer splenomegalen Markhemmung sind.

V. Zusammenfassung

Bei 11 Patienten mit Milztumor infolge chronischer Lebererkrankungen, meist Cirrhosen, und einem Patienten mit einer Splenomegalie ohne faßbare Ursache beurteilen wir die Kinetik des Knochenmarks nach Differential- und Mitosezählungen und nach dem Verhalten in der 3-Tage-Kultur und setzen sie mit den Normwerten in Beziehung (BOLL und MERSCH, 1968, 1969).

Die Untersuchungen zeigen eine in vivo eingeschränkte Regeneration und eine in der Koagulumkultur darstellbare Reifungshemmung der Erythro- sowie Granulocytopoese beim Banti-Syndrom.

Die bei zellreichem Knochenmark herabgesetzte Proliferation beider Reihen der Hämatopoese kann nicht durch die Kompensation einer vermehrten Zelldestruktion im Milztumor erklärt werden, sie läßt eher das Vorhandensein eines hemmenden Milzfaktors vermuten.

VI. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 1

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
0 Std.	PE	8	12	10	-2	0,4
	bE	57	45	51	6	0,8
	pE	82	155	118	-36	10,9
	oE	82	8	45	37	30,4
	rE	9	35	22	-13	7,6

$$\chi^2 = 50,1$$

nach 24 Std.:

PE	4	8	6	-2	0,7
bE	49	45	47	2	0,1
pE	49	220	134	-85	54,6
oE	40	25	33	7	1,4
rE	383	116	250	133	7,7

$$\chi^2 = 64,5$$

nach 48 Std.:

PE	6	2	4	2	1,0
bE	39	19	29	10	3,4
pE	87	140	113	-26	5,9
oE	97	17	57	40	2,8
rE	115	150	133	-18	2,4

$$\chi^2 = 15,5$$

nach 72 Std.:

PE	4	2	3	1	0,3
bE	26	9	18	8	3,5
pE	7	100	54	-47	40,9
oE	24	8	16	8	4,0
rE	92	80	86	6	0,4

$$\chi^2 = 49,1$$

Tabelle 2: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 2

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{\Delta^2}{m}$
0 Std.:						
	PE	8	12	10	-2	0,4
	bE	90	45	68	22	7,1
	pE	125	155	140	-15	1,6
	oE	42	8	25	17	11,5
	rE	59	35	47	12	3,0
						$\chi^2 = 23,6$

nach 24 Std.:

pE	2	8	5	- 3	1,8
bE	49	45	47	2	0,1
pE	402	220	311	91	26,6
oE	45	25	35	10	2,8
rE	50	116	83	-33	14,0
					$\chi^2 = 45,3$

nach 48 Std.:

pE	1	2	2	- 1	0,5
bE	1	19	10	- 9	8,1
pE	140	140	140	0	0,0
oE	103	17	60	43	30,8
rE	91	150	120	29	6,5
					$\chi^2 = 45,9$

nach 72 Std.:

PE	0	2	1	- 1	1,0
bE	0	9	4	-4	4,0
pE	148	100	124	24	4,6
oE	174	8	91	83	75,6
rE	8	80	44	-46	48,0
$\chi^2 = 133,2$					

Tabelle 3: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 3

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
0 Std.:						
	pE	18	12	15	3	0,6
	bE	42	45	44	- 2	0,1
	pE	127	155	141	-14	1,3
	oE	3	8	6	- 3	1,5
	rE	16	35	25	9	3,2
						$\chi^2 = 6,7$
nach 24 Std.:						
	pE	32	8	20	10	5,0
	bE	60	45	53	7	0,9
	pE	170	220	145	25	4,2
	oE	0	25	12	-12	12,0
	rE	25	116	70	-45	28,9
						$\chi^2 = 51,0$
nach 48 Std.:						
	pE	8	2	5	3	1,8
	bE	8	19	14	- 6	2,8
	pE	116	140	128	-12	1,1
	oE	7	17	12	- 5	2,0
	rE	282	150	216	66	20,1
						$\chi^2 = 27,8$
nach 72 Std.:						
	pE	5	2	4	1	0,2
	bE	7	9	8	- 1	0,1
	pE	90	100	95	- 5	0,3
	oE	2	8	5	- 3	1,8
	rE	290	80	185	105	59,0
						$\chi^2 = 61,4$

Tabelle 4: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 4

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
0 Std.:	PE	94	12	53	41	31,8
	bE	169	45	107	62	35,9
	pE	131	155	143	-12	1,0
	oE	8	8	8	0	0,0
	rE	72	35	53	19	6,8
						$\chi^2 = 75,5$
nach 24 Std.:	PE	18	8	13	5	1,9
	bE	98	45	72	26	9,3
	pE	146	220	138	37	16,4
	oE	20	25	23	-3	0,4
	rE	95	116	105	-10	0,9
						$\chi^2 = 28,9$
nach 48 Std.:	PE	30	2	16	14	12,3
	bE	50	19	34	16	7,5
	pE	38	140	89	51	2,9
	oE	16	17	16	0	0,0
	rE	262	150	206	56	14,9
						$\chi^2 = 37,6$
nach 72 Std.:	PE	12	2	7	5	3,5
	bE	142	9	75	67	59,8
	pE	56	100	78	-22	6,2
	oE	8	8	8	0	0,0
	rE	179	80	130	49	18,0
						$\chi^2 = 87,5$

Tabelle 5: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 5

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{\Delta^2}{m}$
0 Std.:	PE	17	12	15	2	0,3
	bE	135	45	90	45	22,5
	pE	180	155	168	12	0,9
	oE	6	8	7	- 1	0,1
	rE	27	35	31	- 4	0,5
						$\chi^2 = 24,3$

nach 24 Std.:

PE	10	8	9	1	0,1
bE	129	45	87	42	20,3
pE	216	220	218	- 2	0,0
oE	41	25	33	8	1,9
rE	229	116	173	56	18,1
$\chi^2 = 40,4$					

nach 48 Std.:

PE	13	2	7	6	5,1
bE	51	19	35	16	7,3
pE	148	140	144	4	0,1
oE	2	17	9	- 7	5,4
rE	221	150	185	36	7,0
$\chi^2 = 24,9$					

nach 72 Std.:

PE	8	2	5	3	1,8
bE	8	9	8	0	0,0
pE	100	100	100	0	0,0
oE	3	8	5	- 2	0,8
rE	153	80	117	36	11,0
$\chi^2 = 13,6$					

Tabelle 6: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Erythropoese

Fall 6

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
0 Std.:	PE	5	12	8	- 3	1,1
	bE	112	45	78	34	14,8
	pE	137	155	146	- 9	0,5
	oE	0	8	4	- 4	4,0
	rE	33	35	34	- 1	0,0

$$\chi^2 = 20,4$$

nach 24 Std.:

PE	5	8	7	- 2	0,5
bE	147	45	96	51	27,0
pE	200	220	210	-10	0,4
oE	6	25	16	-10	6,2
rE	113	116	115	- 3	0,0

$$\chi^2 = 34,1$$

nach 48 Std.:

PE	7	2	4	3	2,2
bE	40	19	30	10	3,3
pE	180	140	160	20	0,2
oE	18	17	18	0	0,0
rE	183	150	167	16	1,5

$$\chi^2 = 7,2$$

nach 72 Std.:

PE	1	2	2	- 1	0,5
bE	84	9	46	38	3,1
pE	190	100	145	45	13,9
oE	10	8	9	1	0,1
rE	285	80	182	103	58,2

$$\chi^2 = 75,8$$

Tabelle 7: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Granulocytopoese

Fall 6

	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
nach						
0 Std.:	Mbl	6	33	20	-14	9,8
	Prom	38	134	86	-48	26,7
	Myel	94	228	161	-67	27,8
	eos Myel	26	23	25	1	0,0
	MM	15	176	95	-80	67,3
	St	150	184	167	-17	1,7
	Seg	254	193	223	31	4,3
	eos Seg	12	23	18	-6	2,0

$$\chi^2 = 139,6$$

nach 24 Std.:

Mbl	4	25	15	-11	8,0
Prom	66	239	152	-86	48,6
Myel	108	451	280	-72	18,4
eos Myel	20	58	39	-19	9,2
MM	26	185	105	-79	60,3
St	68	139	104	-36	12,4
Seg	59	200	130	-71	38,4
eos Seg	11	36	23	-12	6,2

$$\chi^2 = 201,5$$

nach 48 Std.:

Mbl	1	19	10	-9	8,1
Prom	120	172	146	-26	4,6
Myel	77	297	187	-110	64,1
eos Myel	52	39	45	7	1,0
MM	18	118	68	-50	36,7
St	65	96	80	-15	2,8
Seg	113	148	130	-17	2,9
eos Seg	26	25	26	0	0,0

$$\chi^2 = 120,2$$

nach 72 Std.:

Mbl	0	12	6	-6	6,0
Prom	28	96	62	-34	18,6
Myel	85	193	139	-54	20,9
eos Myel	28	79	54	-26	12,5
MM	14	124	69	-55	44,1
St	76	118	87	-11	1,3
Seg	93	172	133	-40	12,0
eos Seg	18	32	25	-7	1,9

$$\chi^2 = 117,3$$

Tabelle 8: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Granulocytopoese

Fall 8

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{2}{\Delta/m}$
0 Std.:	Mbl	2	33	18	-16	14,2
	Prom	79	134	106	-27	6,8
	Myel	101	228	165	-64	24,8
	eos Myel	6	23	14	- 8	4,5
	MM	26	176	101	-75	55,6
	St	109	184	147	-38	9,8
	Seg	48	193	120	-72	43,5
	eos Seg	13	23	18	- 5	1,3

$$\chi^2 = 160,5$$

nach 24 Std.:

Mbl	0	25	13	-13	13,0
Prom	82	239	161	-79	38,7
Myel	153	451	302	-149	70,2
eos Myel	15	58	36	-41	46,7
MM	8	185	96	-88	80,6
St	50	139	94	-44	20,5
Seg	41	200	120	-79	52,0
eos Seg	10	36	23	-13	7,3

$$\chi^2 = 329,0$$

nach 48 Std.:

Mbl	0	19	9	- 9	9,0
Prom	120	172	146	-26	4,6
Myel	208	297	253	-45	8,0
eos Myel	16	39	27	-11	4,4
MM	22	118	70	-48	3,2
St	76	96	86	-10	1,1
Seg	134	148	141	- 7	0,3
eos Seg	16	25	20	- 4	0,8

$$\chi^2 = 31,4$$

nach 72 Std.:

Mbl	0	12	6	- 6	6,0
Prom	76	96	86	-10	1,1
Myel	271	193	232	-39	6,5
eos Myel	19	79	49	-30	1,8
MM	34	124	79	-45	25,6
St	72	118	85	-13	2,0
Seg	80	172	126	-46	16,7
eos Seg	3	32	18	-15	12,5

$$\chi^2 = 72,2$$

Tabelle 9: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Granulocytopoese

Fall 9

	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
nach						
0 Std.:	Mbl	4	33	16	-12	9,0
	Prom	136	134	135	1	0,0
	Myel	185	228	206	-21	2,1
	eos Myel	37	23	30	7	1,6
	MM	34	176	105	-71	48,0
	St	152	184	168	-16	1,5
	Seg	264	193	228	36	5,6
	eos Seg	23	23	23	0	0,0

$$\chi^2 = 67,8$$

nach 24 Std.:

	Mbl	8	25	17	9	4,7
	Prom	177	239	208	-31	4,6
	Myel	127	451	239	-112	52,4
	eos Myel	55	58	57	-2	0,0
	MM	15	185	100	-85	72,2
	St	12	139	75	-63	52,9
	Seg	19	200	109	-90	74,3
	eos Seg	6	36	21	-15	10,7

$$\chi^2 = 271,8$$

nach 48 Std.:

	Mbl	1	19	10	-9	8,1
	Prom	177	172	174	3	0,0
	Myel	107	297	202	95	45,1
	eos Myel	36	39	37	-1	0,0
	MM	89	118	104	-15	2,1
	St	68	96	82	6	0,4
	Seg	83	148	115	32	8,8
	eos Seg	37	25	31	6	1,1

$$\chi^2 = 65,6$$

nach 72 Std.:

	Mbl	3	12	7	-4	2,2
	Prom	134	96	115	19	3,1
	Myel	124	193	159	-35	7,7
	eos Myel	43	79	61	-18	5,3
	MM	40	124	82	-42	21,5
	St	70	118	94	-24	6,1
	Seg	137	172	154	-17	1,8
	eos Seg	55	32	44	11	2,7

$$\chi^2 = 50,4$$

Tabelle 10: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Granulocytopoese

Fall 10

	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
nach						
0 Std.:	Mbl	3	33	18	-15	12,5
	Prom	185	134	159	-26	4,2
	Myel	47	228	137	-90	59,1
	eos Myel	10	23	17	-7	2,8
	MM	38	176	107	69	44,4
	St	196	184	190	6	0,1
	Seg	128	193	160	-32	6,4
	eos Seg	9	23	16	-7	3,0

$$\chi^2 = 122,5$$

nach 24 Std.:

Mbl	4	25	15	-11	8,0
Prom	250	239	245	5	0,1
Myel	179	451	315	136	58,6
eos Myel	19	58	38	19	9,5
MM	25	185	105	80	60,9
St	66	139	102	-36	12,7
Seg	95	200	147	-52	18,3
eos Seg	11	36	23	-12	6,3

$$\chi^2 = 174,4$$

nach 48 Std.:

Mbl	1	19	10	-9	8,1
Prom	128	172	150	-22	3,2
Myel	146	297	222	-76	26,0
eos Myel	22	39	30	-8	2,1
MM	28	118	73	-45	27,7
St	70	96	83	-13	2,0
Seg	114	148	131	-17	2,2
eos Seg	35	25	30	5	0,7

$$\chi^2 = 72,0$$

nach 72 Std.:

Mbl	1	12	6	-5	4,1
Prom	22	96	59	37	23,2
Myel	298	193	245	53	11,4
eos Myel	11	79	45	-34	25,6
MM	43	124	84	-41	20,0
St	28	118	73	-45	27,7
Seg	372	172	272	100	36,7
eos Seg	13	32	33	-20	12,1

$$\chi^2 = 160,8$$

Tabelle 11: Werte der Signifikanzberechnung für die Reifungskurven der Granulocytopoese

Fall 12

nach	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
0 Std.:	Mbl	12	33	23	-11	5,2
	Prom	63	134	98	-35	12,5
	Myel	96	228	162	-66	26,8
	eos Myel	29	23	26	3	0,3
	MM	20	176	98	-78	62,0
	St	180	184	182	-2	0,0
	Seg	211	193	202	9	0,4
	eos Seg	5	23	14	-9	5,7

$$\chi^2 = 112,9$$

nach 24 Std.:

Mbl	9	25	17	-8	3,7
Prom	86	239	163	-77	36,3
Myel	118	451	284	166	73,7
eos Myel	30	58	44	-14	4,4
MM	18	185	133	-111	92,6
St	65	139	102	-37	13,4
Seg	89	200	144	-55	21,0
eos Seg	8	36	22	-14	8,9

$$\chi^2 = 254,0$$

nach 48 Std.:

Mbl	2	19	10	-8	6,4
Prom	86	172	129	-43	14,3
Myel	119	297	208	89	38,0
eos Myel	38	39	38	0	0,0
MM	26	118	132	-106	85,1
St	84	96	90	-6	0,4
Seg	174	148	156	18	2,0
eos Seg	15	25	20	-5	1,2

$$\chi^2 = 141,4$$

nach 72 Std.

Mbl	2	12	7	-5	3,5
Prom	62	96	79	-17	3,6
Myel	102	193	148	-46	14,3
eos Myel	71	79	75	-4	0,2
MM	25	124	74	-49	32,4
St	73	118	95	-22	5,0
Seg	124	172	148	-24	3,8
eos Seg	23	32	27	-4	0,5

$$\chi^2 = 63,3$$

Tabelle 12

Fall	Diagnose	Milztumor	Eryth. Mill./cmm	Leuk. pro cmm	Thromb.	KM-Zelldichte	Senkung	Fe im Serum
1	Pyelonephritis	2-3QF	3,4	11000	355000	gut, unter 1	99/130	
2	Lebercirrhose	+ 5QF	4,0	14000	212000	reichlich 770000/cmm	60/90	
3	chr. Leberparen- chymschaden	+++	sideroach. 2,7	14000	127000	reichlich, über 1	71/112	62 %
4	Lebercirrhose	+	3,0	3000	95000	reichlich, über 1		
5	Lebercirrhose	1-2QF	4,1	4400	50 000	reichlich		
6	Potatorium	Milz am Ribo derb	3,8	4300	32000	über 1		
7	Lebercirrhose Fibroadenie d. Milz		sideroach. 2,3	11000	38000	mittl. Zelldichte reichlich 860000/cmm	11/27	100 % 3
8	Lebercirrhose	1965 Milz- tumor, bei Sectio 1969 550 g	3,7	1700	67000	reichlich, über 1		
9	Leberschaden Funktionsstörung der Thrombozyten		3,0	600	88000	mittl. Zelldichte	56/81	31 %
10	Lebercirrhose Oesophagus-Varizen	1QF	3,0	3600		reichlich 610000/cmm	54/96	
11	Lebercirrhose	Milz ver- größert	3,2	6000	185000	reichlich		
12	Genuiner Milz- tumor	++ Leber 2QF, alle Teste oB.	4,4	3800	140000	über 1 mittl. Zelldichte	9/7	108 %

Tabelle 13: G/E-Indices der Originalausstriche und Kulturen nach 1 - 3 Tagen.

	Zahl der Fälle			Kulturstunden		
		0	24	48	72	
Normales Mark	19	3,4	2,4	2,5	3,1	
Splenogene Markhemmung	12	2,2	0,9	1,6	1,7	

Tabelle 15: Differentialverteilung und Mitoseindices in vivo

Granulocytopoese

normal 24 Fälle	Mbl	Prom	Myel	eos. myel	Meta- myel	Stab	Seg	eos. Seg	Gesamt- zellzahl
Zellzahl	792	3236	4925	560	4244	4414	4639	538	23399
%	4	14	21	2	18	19	20	2	100
Mitosen	35	46	96	8			ges. weißer MI mit Metamyel	ges. weißer MI ohne Metamyel	ges. weißer MI ohne Metamyel
o/oo	44,2	14,2	19,5	14,3			13,4		19,4
splenogene Markhemmung 12 Fälle	Mbl	Prom	Myel	eos. Myel	Meta- myel	Stab	Seg	eos. Seg	Gesamt- zellzahl
Zellzahl	77	1109	1277	263	886	1681	2603	218	8114
%	1	14	16	3	11	20	32	3	100
Mitosen	2	10	16	3			ges. weißer MI mit Metamyel	ges. weißer MI ohne Metamyel	ges. weißer MI ohne Metamyel
o/oo	26,0	9,0	12,5	11,5			8,6		11,2

Tabelle 14: Differentialverteilung und Mitoseindices in vivo

Erythropoese

normal 19 Fälle	PE	bE	pE	oE	rE	Gesamt- zellzahl
Zellzahl	208	695	2960	145	573	4581
%	5	15	65	3	12	100
Mitosen	8	36	25	0	-	69
°/oo	38,3	51,9	8,4	0	-	14,7
splenogene Markhemmung 12 Fälle	PE	bE	pE	oE	rE	Gesamt- zellzahl
Zellzahl	415	1301	1770	348	541	4375
%	9	30	42	8	11	100
Mitosen	11	20	18	0	-	49
°/oo	26,0	15,4	10,2	0	-	11,1

Tabelle 16: G/E-Indices der Originalausstriche und Kulturen nach 1-3 Tagen in vitro

Fall	0	24	48	72	Stunden in vitro
1	2,4	0,8	1,5	4,7	
2	2,0	0,8	1,8	1,8	
3	2,9	1,3	0,9	0,6	
4	0,8	1,1	0,9	1,1	
5	1,5	0,5	1,1	0,8	
6	2,2	0,8	1,1	0,6	
7	0,5	0,4		0,4	
8	0,9	0,6	1,7	1,7	
9	5,1	0,9	2,7	2,3	
10	2,8	2,2	2,1	4,6	
11	3,1	1,4	2,3	0,9	
12	2,6	1,0	1,6	1,2	
arithm.					
Mittel	2,2	0,9	1,6	1,7	

Tabelle 17 Kinetik nach den Mitoseindices der Reifungsklassen in vivo und vitro

Fall- zahl	Kultur- stunden	ges. r. MI	PE	bE	pE	oE
normale						
Erythropoese	19					
	O	14,7	38,3	51,9	8,4	O, O
	24	6,8	31,7	21,3	3,3	5,2
	48	4,6	22,7	8,6	3,0	10,9
splenogene Markhemmung	72	2,2	O, O	19,6	O,5	8,5
	12					
	O	11,1	26,0	15,4	10,2	O, O
	24	7,8	14,3	8,8	8,1	4,2
	48	8,3	9,9	8,2	9,4	11,4
	72	4,0	16,7	12,5	1,6	2,3
Fall- zahl	Kultur- stunden	ges. weißer MI ohne Metamyel	ges. weißer MI mit Metamyel	Mbl	Prom Myel	eos. Myel
normale						
Granulocytopoese	24					
	O	19,4	13,4	44,2	14,2	19,5
	24	18,9	15,0	34,1	20,0	17,1
	48	13,6	11,0	29,7	17,1	11,0
	72	7,1	5,0	O, O	10,9	5,7
						6,3
splenogene Markhemmung	12					
	O	11,2	8,6	26,0	9,0	12,51
	24	13,31	11,8	(O, O)	15,9	7,8
	48	11,6	9,7	(52,5)	13,1	8,7
	72	6,8	5,7	(O, O)	8,2	3,5
						13,9

Tabelle 18: Weißer Mitoseindex(wMI) der Originalausstriche und Kulturstunden nach 1-3 Tagen in vitro

Fall	0	24	48	72	Stunden in vitro
	%o	%o	%o	%o	
1	4,0	12,2	5,7	2,3	
2	9,2	11,6	19,4	7,0	
3	10,5	12,4	5,0	0,0	
4	5,2	0,0	4,9	11,0	
5	14,5	0,0	13,0	7,0	
6	11,0	8,8	11,2	6,0	
7	20,3	13,4	15,0	12,0	
8	4,7	0,0	5,8	2,5	
9	5,0	15,7	5,0	2,9	
10	13,8	0,0	3,1	3,0	
11	0,8		10,0	7,2	
12	4,2	3,8	18,3	7,5	
arithm.					
Mittel	8,6	7,0	9,7	5,7	

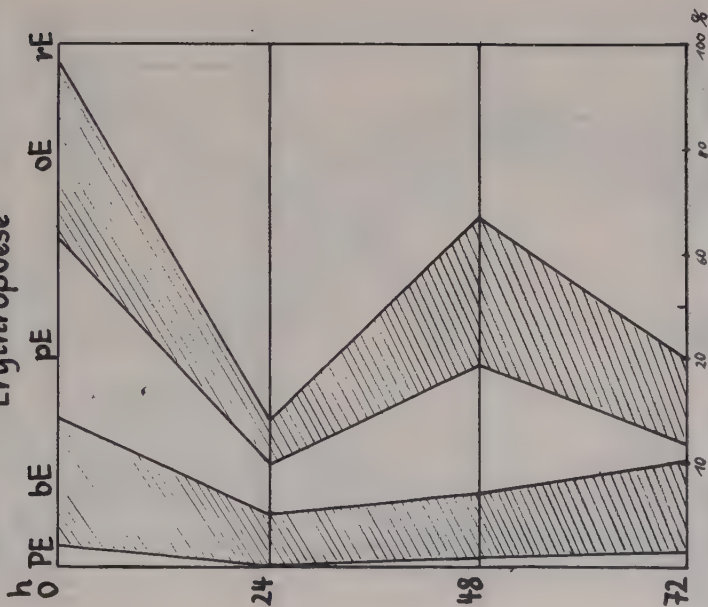
Tabelle 19: Roter Mitoseindex (rMI) der Originalausstriche und Kulturen nach 1-3 Tagen in vitro

Fall	Stunden in vitro			
	0	24	48	72
	%o	%o	%o	%o
1	0,0	7,0	22,0	16,4
2	3,8	0,0	8,2	0,0
3	26,3	6,9	0,0	19,4
4	20,0	3,5	30,0	9,2
5	3,0	2,5	0,0	0,0
6	4,0	14,0	8,2	3,0
7	32,7	14,3	6,8	0,0
8	6,5	4,7	0,0	0,0
9	1,0	2,7	0,0	0,0
10	24,2	4,4	19,0	0,0
11	4,5		0,0	0,0
12	6,1	7,0	5,4	0,0

arithm.

Mittel 11,1 6,0 8,3 4,0

Erythropoese



Granulopoese

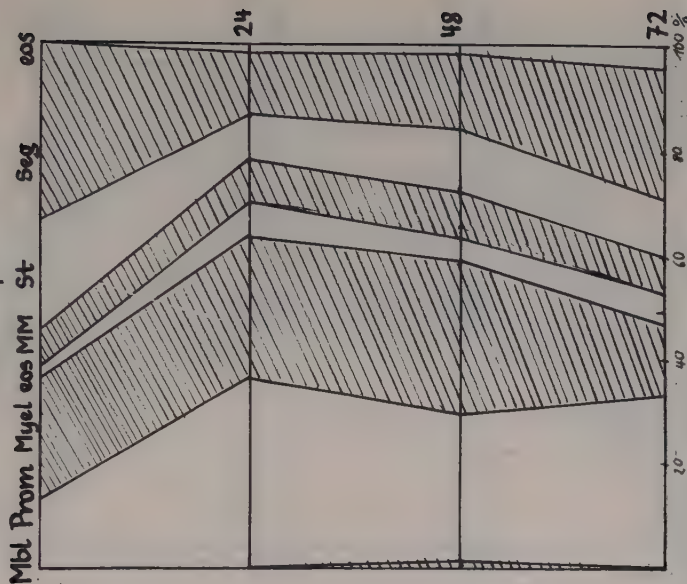


Abb. 1. Reifungskurven der Erythropoese u. Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen. PE Proerythroblasten, BE basophile Erythroblasten, pE polychromatische Erythroblasten, oE oxyphile Erythroblasten, rE reife Erythroblasten, Mbl Myeloblasten, Prom Promyelocyten, Myel Myelocyten, MM Metamyelocyten, St Stabkernige, eos eosinophiler Myelocyt bzw. eosinophiler Segmentkerniger.

Fall 2

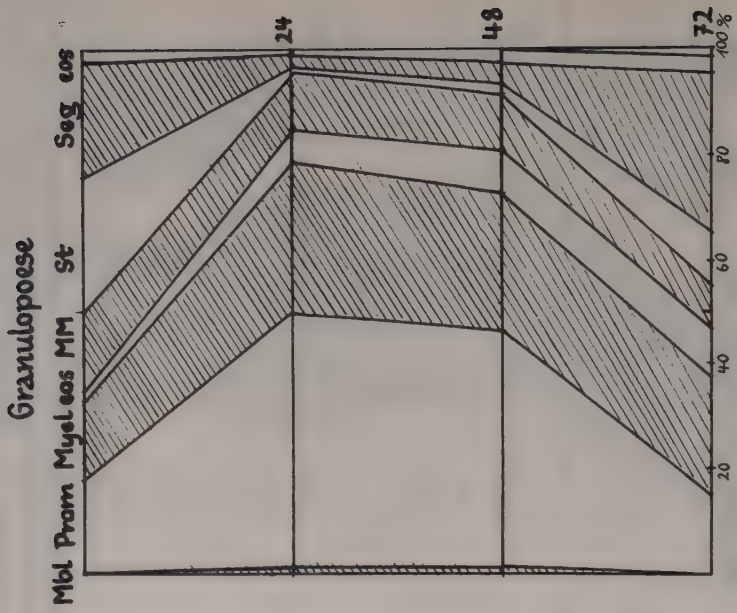
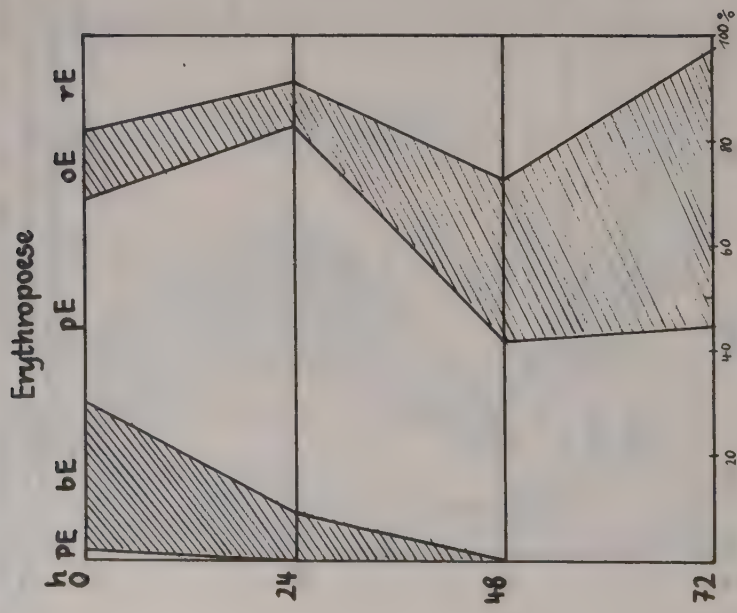


Abb. 2. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Erythropoese

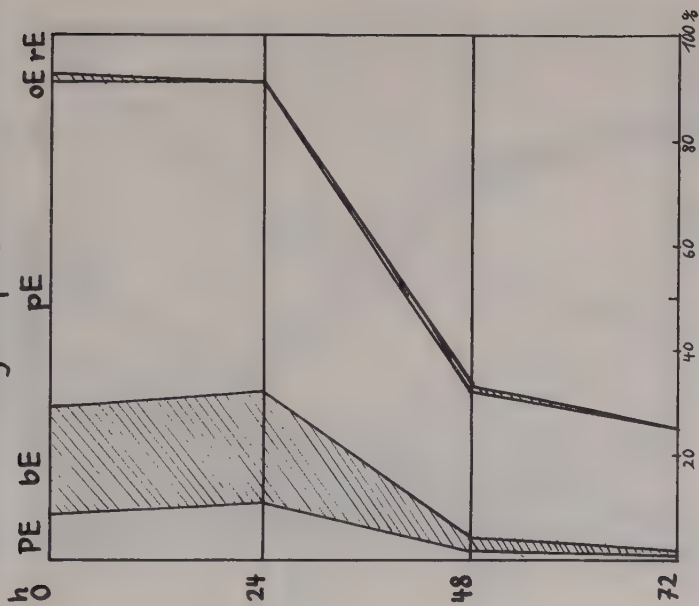
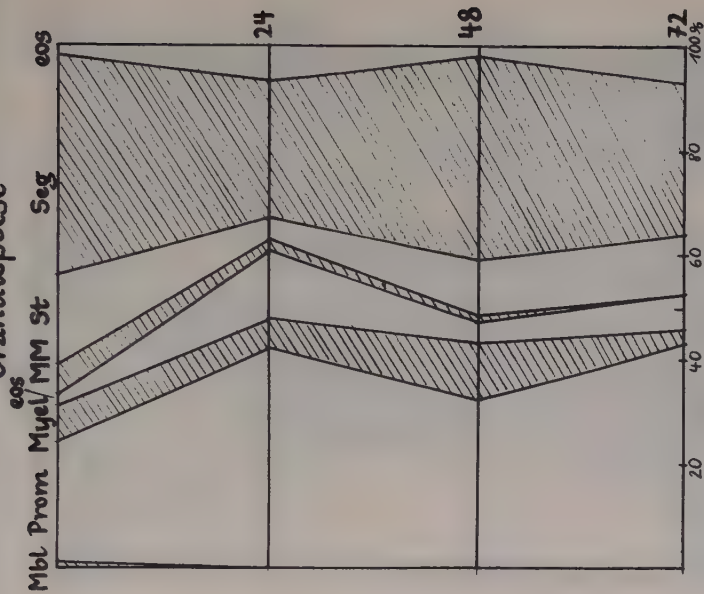


Abb. 3. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

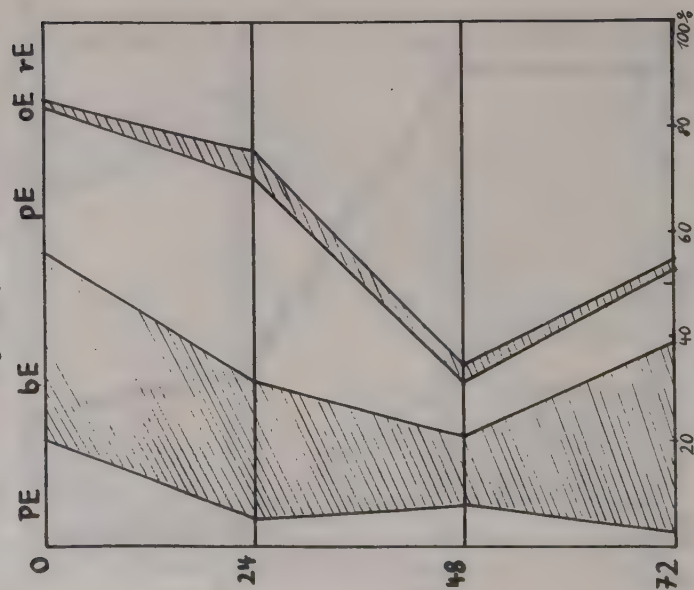
Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen

Granulopoese



Fall 4

Erythropoese



Granulopoese

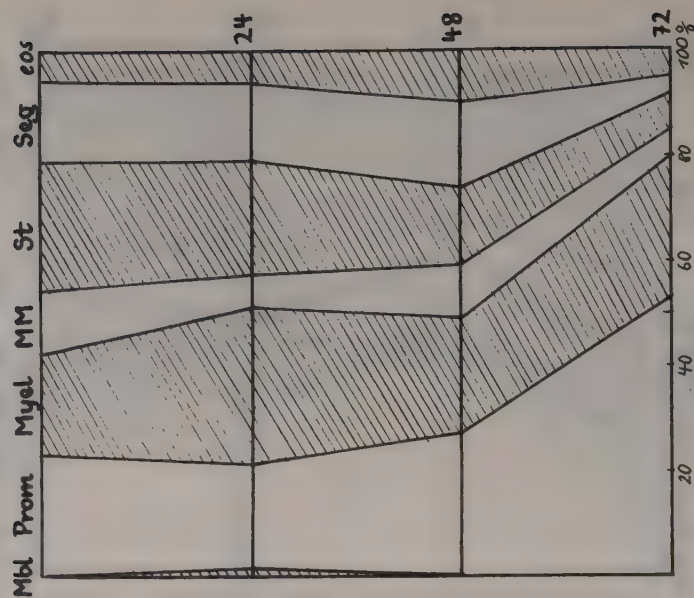
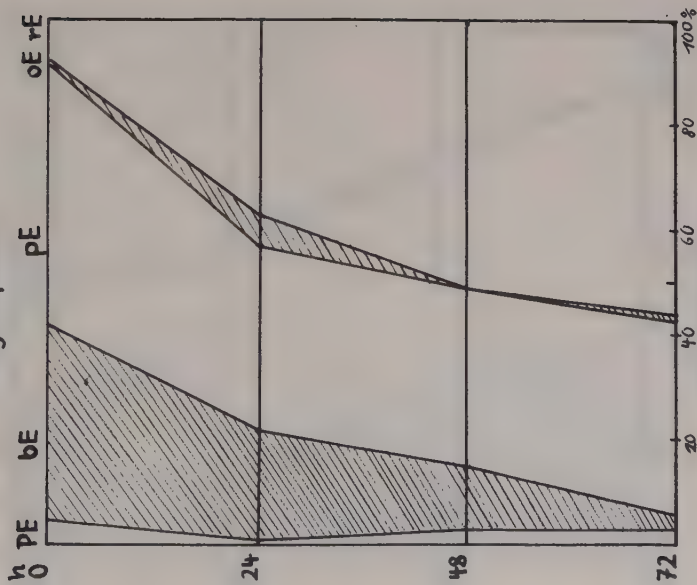


Abb. 4. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)
Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Fall 5

Erythropoese



Granulopoese

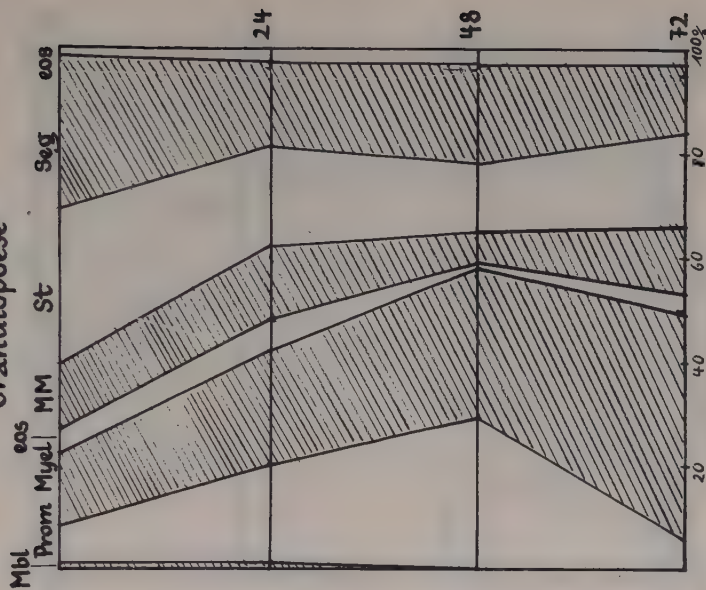


Abb. 5. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)
Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Fall 6

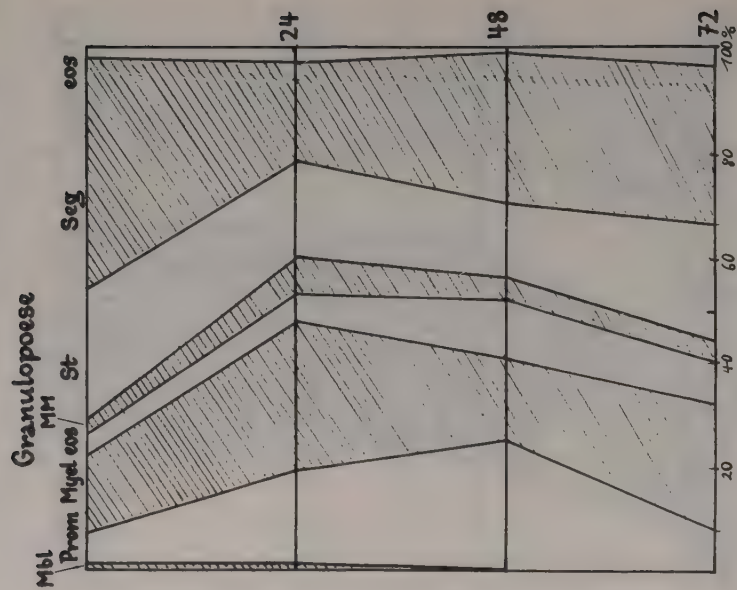
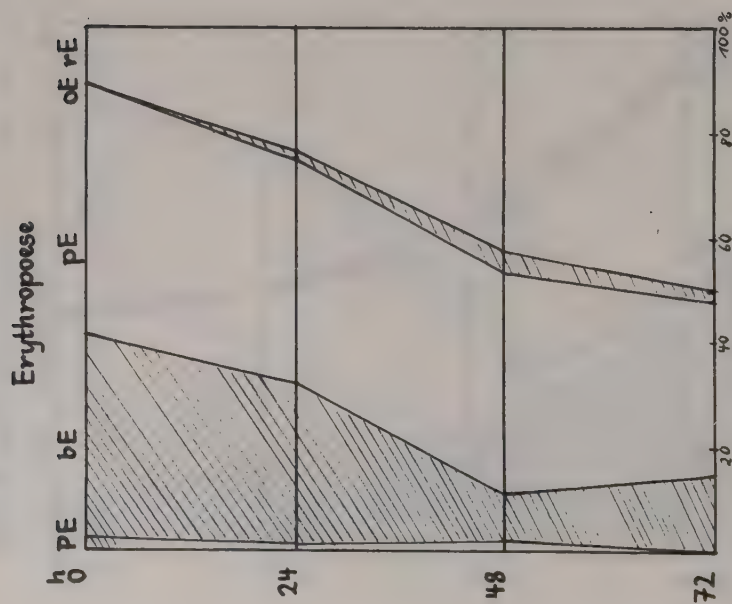
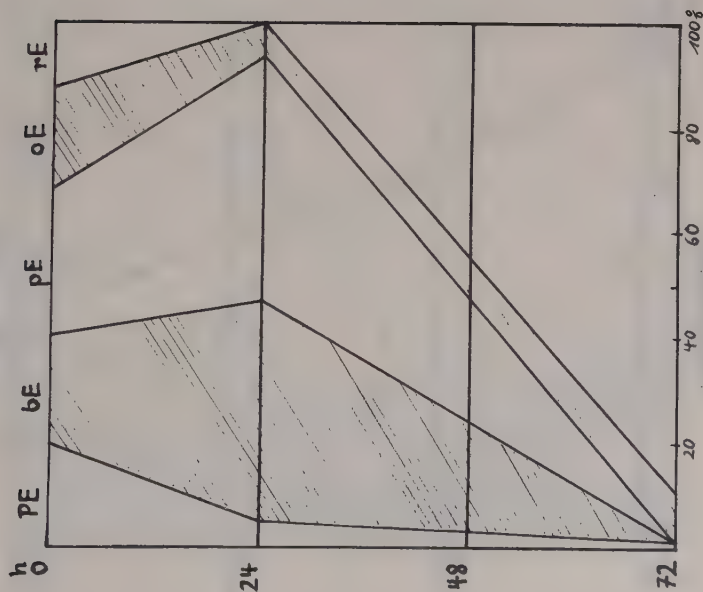


Abb. 6. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Fall 7

Erythropoese



Granulopoese

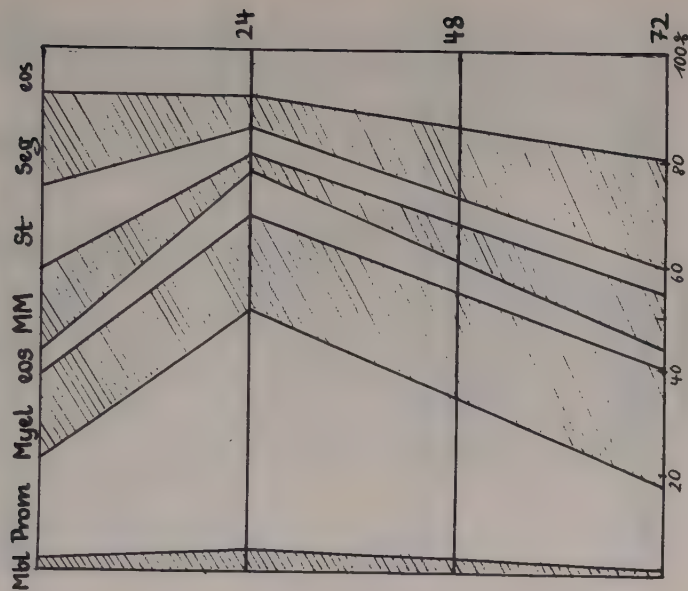
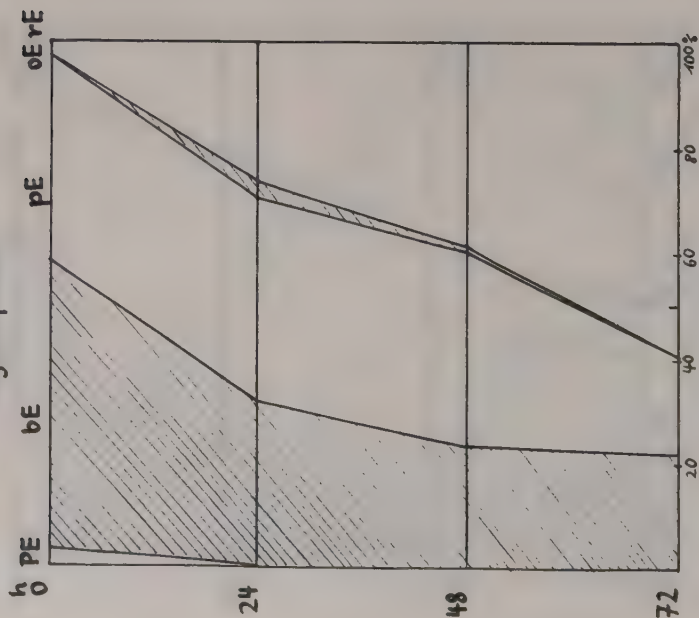


Abb. 7. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)
Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen
zeitgerecht aufgetragen.

Fall 8

Erythropoese



Granulopoese

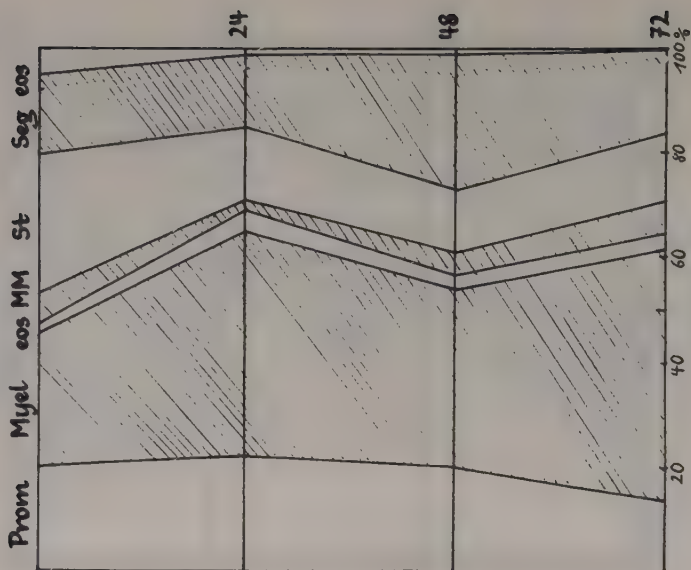
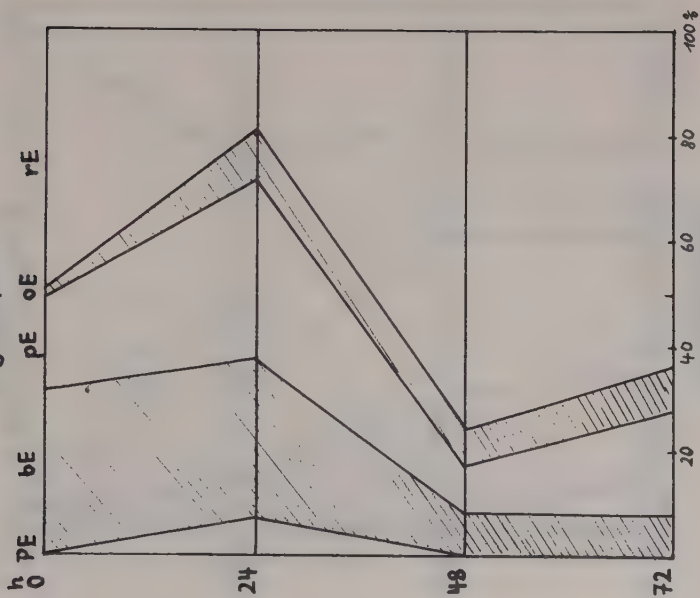


Abb. 8. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen

Fall 9

Erythropoese



Granulopoese

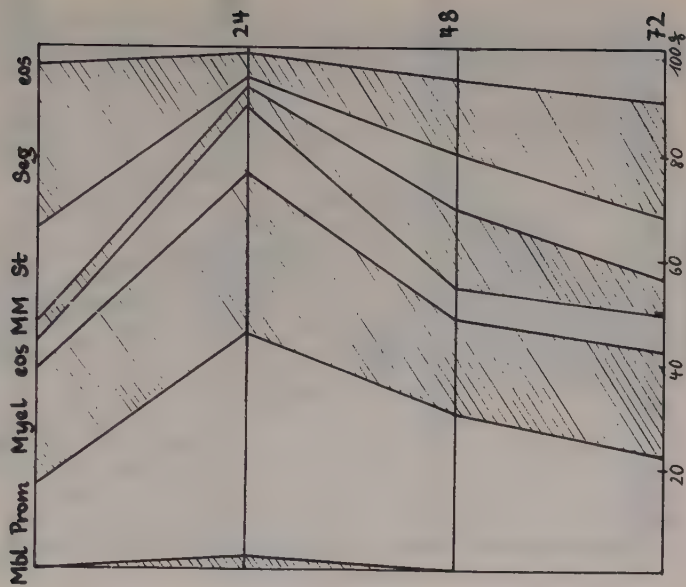
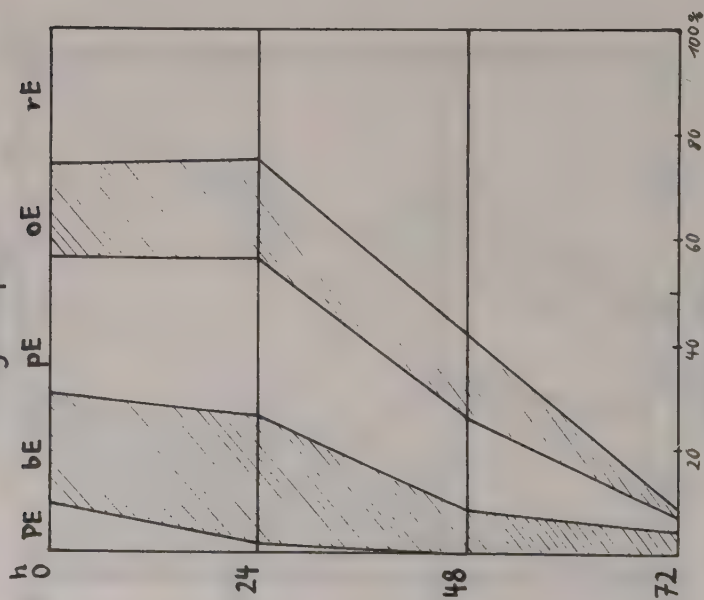


Abb. 9. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)
Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Fall 10

Erythropoese



Granulopoese

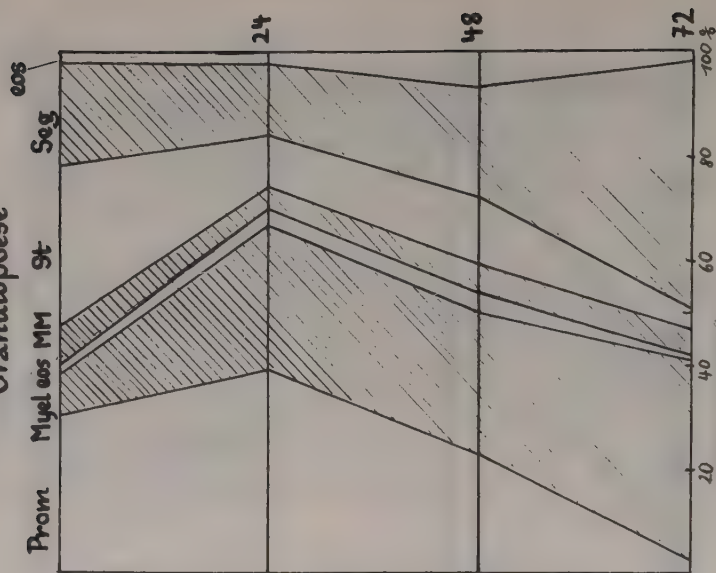
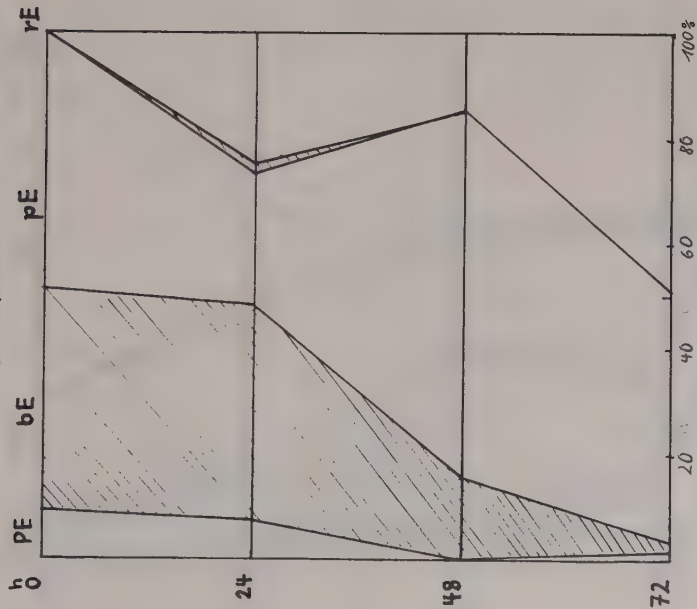


Abb. 10. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Erythropoese



Granulopoese

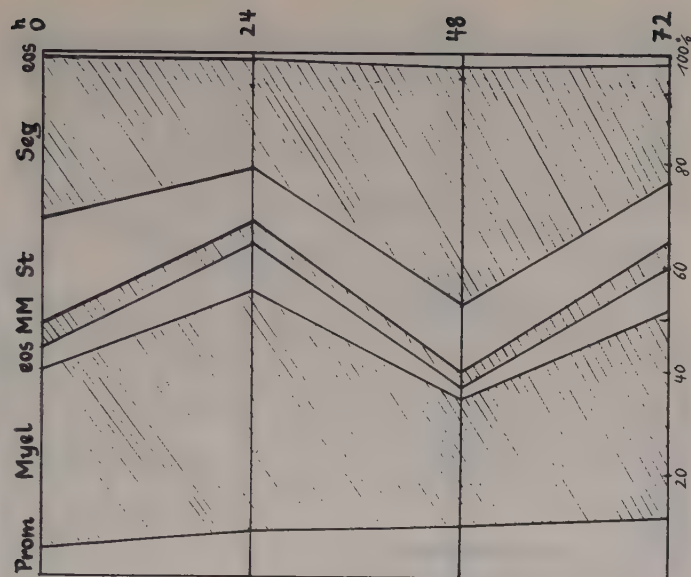


Abb. 11. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Reifungskurven der Erythropoese und Granulocytopoese während 72 Kultur-Stunden in Prozentzahlen zeitgerecht aufgetragen.

Fall 12

- 54 -

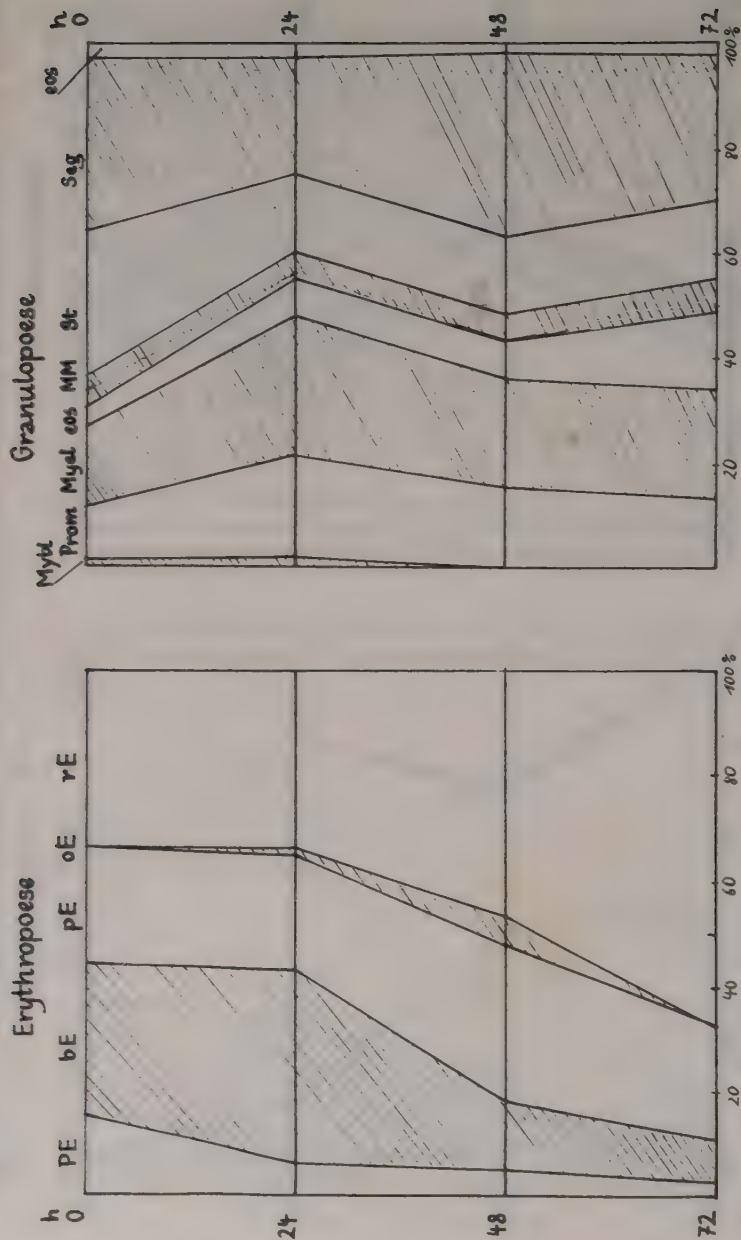
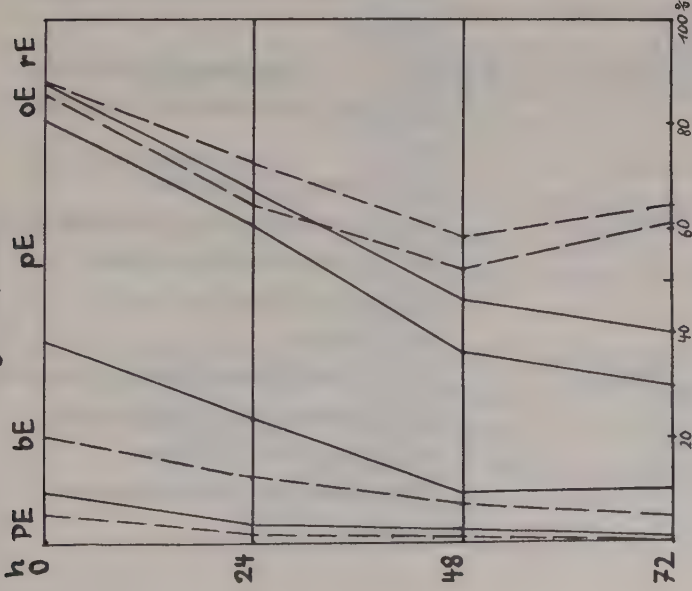


Abb. 12. Reifungskurven der Patientin mit Splenomegalie ohne faßbare Ursache.
 (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

Erythropoese



— Banti-Syndrom

--- normal

Granulopoese

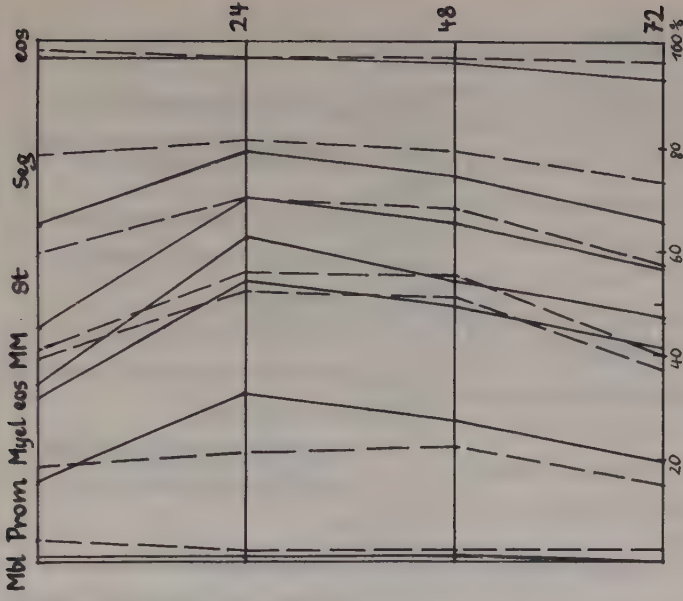


Abb. 13. Reifungskurven von 12 Patienten mit Banti-Syndrom und von 19 bzw. 24 Normalfällen. (Zeichenerklärung s. Abb. 1)

VI. Literatur

1. ALBERT, H. -H. v.: Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung "hypersplener" Milzen.
I. Experimentelle Untersuchungen mit der Deckglas-Kultur-Methode. Blut 9, 405 (1963).
2. ALBERT, H. -H. v., ZICHGRAF, H.: Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung "hypersplener" Milzen.
II. Experimentelle Untersuchungen an der Flüssigkeitskultur. Blut 12, 104 (1966).
3. BALDINI, M.: Banti's view of splenic anemia: Hypersplenism and the humoral factor. Proc. IVth Congr. Int. Soc. Haemat., 422 (1956).
4. BOCK, H. -E., FRENZEL, B.: Splenogene Knochenmarkshemmung. (Tierexperimenteller Beweis)
Klin. Wschr. 17, 1315 (1938).
5. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
6. BOLL, I.: Die Proliferationskinetik der normalen und angeregten Erythropoese nach morphologischen Kriterien. Hämatologie und Bluttransfusion 8, 49 (1969).

7. BOLL, I. : Die Proliferationskinetik der normalen und leukaemischen Granulocytopoese.
Folia haemat. (Lpz.) 91, 172 (1969).
8. BOLL, I., MERSCH, G. : Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. Blut 17, 193 (1968).
9. BOLL, I., MERSCH, G. : Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulocytopoese in vitro. Blut 19, 257 (1969).
10. BOLL, I., FUCHS, G. : Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.
Blut VII, 257 (1961).
11. COTTIER, H. : Experimenteller Beitrag zur Frage der hypersplenischen Panhämocytopenien.
Acta haemat. (Basel) 7, 303 (1952).
12. CROSBY, W. H. : Is hypersplenism a dead issue?
Blood 20, 94 (1962).
13. DOAN, C. A. : Hypersplenic cytopenic syndromes: a 25 year experience with special reference to splenectomy.
Proc. VI Congr. Intern. Soc. Haemat., 429 (1958).
14. DUESBERG, R. : Milzfunktion und Hypersplenie.
Ärztl. Wschr. 13, 1 - 11 (1958)
15. EPPINGER, H. : Zur Pathologie der Milzfunktion.
Berl. klin. Wschr. 50, 1509, 1572, 2409 (1913).

16. FRANK, E.: Aleukia splenica.
Berl. klin. Wschr. 53, 555 (1916).
17. Geigy Documenta: Wissenschaftliche Tabellen.
J. R. Geigy, Basel 1960.
18. HAAM, E., AWNY, A. Y.: Pathology of hypersplenism.
Amer. J. clin. Path. 18, 313 (1948).
19. HEILMEYER, I.: Funktionsprüfung der Leukopoese des
Knochenmarks.
Dtsch. med. Wschr. 82, 644 (1957).
20. HEILMEYER, L.: Physiologische Beziehungen zwischen
Milz und Knochenmark.
Klin. Wschr. 33, 689 (1955).
21. HEILMEYER, L.: Handb. d. Inn. Med.,
Bd. II, Springer Verlag, Berlin-
Göttingen-Heidelberg 1951.
22. HITTMAIER, A.: HEILMEYER-HITTMAIER, Handbuch
der ges. Hämatologie, Bd. 5/2,
S. 192ff.
München-Berlin-Wien: Urban &
Schwarzenberg 1969.
23. JANDL, J. H., KAPLAN, M. E.: The destruction of red
cells by antibodies in man.
J. clin. Invest. 39, 1145 (1960).
24. JOMBRES, P.: Zur Frage der Hemmwirkung der Milz
auf das Knochenmark.
Z. ges. exp. Med. 106, 457 (1939).
25. KISSMEYER-NIELSEN, E.: Experimentally produced
hypersplenism.
Proc. III. Congr. Intern. Soc.
Haematol., 102 (1951).
26. MOESCHLIN, S.: Indikationen der Splenektomie.
Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 12,
226 - 241 (1956).

27. MONTE, R. W., BARRON, J. A., VAITKEVICIUS, V.:
Observations of the gastrointestinal
administration of bovine splenic
homogenate on hematopoiesis in man.
Blood 22, 822 (1963).
28. MOTULSKY, A. G. et al.: Anemia and the spleen.
New Engl. J. Med. 259, 1164 (1958).
29. PALMER, J. G.: Experimental production of spleno-
megaly, anemia and leukopenia in
albino rat.
Blood 8, 72 (1953).
30. PRIBILLA, W.: Über einige Funktionen der Milz.
Internist 8, 345 (1967).
31. REIMANN, F.: Acta hepato splenol. 10, 84 (1963).
32. SACCHETTI, C., BOCCACCIO, P.: Riconoscimento
del sequestro di granulociti nella
milza.
Minerva nucl. 9, 207 (1965).
33. WEINREICH, J.: Milz und Leber in ihrem Einfluß auf
das Blutbild. - Untersuchungsergeb-
nisse zum Problem des "Hyper-
splenismus".
Acta hepato-splenol. 10, 81 (1963).
34. WEINREICH, J.: Knochenmarkfunktionsprüfung bei
Patienten mit chronischen Leber-
erkrankungen.
Acta hepato-splenol. 16, 18 (1969).
35. WEINREICH, J., BUSSMAN, J., MAPPE, G.: Unter-
suchungen über Beziehungen zwischen
Milz und Knochenmark bei Ratten mit
Hilfe einer Knochenmarkfunktions-
prüfung.
Z. ges. exp. Med. 133, 221 (1967).
36. WINTROBE, M. M.: Clinical hematology, 6. Aufl.
Philadelphia: Lea u. Febiger (1967).

Frau Professor Dr. med. Irene BOLL danke ich für
ihre stetige Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei
meiner Arbeit.

Herrn Professor Dr. B E E L I T Z
danke ich für die Überwachung der Signifikanzberechnung.

Lebenslauf

Geboren am 30. März 1939 in Burgsteinfurt.

Besuch der Grundschule und des Arnoldinum-Gymnasiums in Burgsteinfurt.

Reifeprüfung im März 1961.

Wehrdienst bei der Deutschen Bundeswehr von April 1961 bis Juni 1962, anschließend 4 Semester Studium der Betriebswirtschaftslehre an den Universitäten Münster und Erlangen-Nürnberg.

Beginn des Studiums der Zahnheilkunde im Sommer 1964 an der Freien Universität Berlin. Dort zahnärztliche Vorprüfung im Herbst 1967 und zahnärztliche Prüfung im Juli 1970.

Seit September 1970 als Assistenz Zahnarzt in Berlin tätig.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF.
Nr. 031 - 64-1 BIAD.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft
unterstützt.

